

Халилова Айгуль Фидаилевна

ОСНОВНЫЕ ФАКТОРЫ И МЕХАНИЗМЫ ФИТОТОКСИЧНОСТИ
ТОПЛИВНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ И УСЛОВИЯ ЕЕ СНИЖЕНИЯ

03.02.08 - Экология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань – 2012

Работа выполнена в научно-исследовательском отделе
Химии окружающей среды Химического Института
ФГАОУВПО «Казанского (Приволжского) федерального университета»

Научный руководитель (консультант): доктор биологических наук,
профессор Бреус Ирина Петровна,
Казанский (Приволжский) федеральный
университет, г. Казань

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Алимова Фарида Кашифовна,
Казанский (Приволжский) федеральный
университет, г. Казань

доктор биологических наук, профессор
Пахомова Валентина Михайловна,
Казанский государственный аграрный университет, г. Казань

Ведущая организация: Институт проблем экологии и
недропользования (ИПЭН АН РТ)

Защита диссертации состоится «20» декабря 2012 г. в 14.30 часов на заседании диссертационного совета ДМ 212.081.19 при Казанском (Приволжском) федеральном университете по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18.

Факс: (843) 238-71-21; (843) 231-52-40; e-mail: attestat.otdel@ksu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского Казанского (Приволжского) федерального университета по адресу: г. Казань, ул. Кремлевская, 35.

Автореферат разослан «__» _____ 2012 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета
кандидат биологических наук

Р.М. Зелеев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. На фоне увеличения добычи, транспортировки, переработки и использования нефти и нефтепродуктов существенно возросли уровень и масштабы загрязнения природной среды углеводородами (УВ). При классификации органических загрязнителей УВ, входящие в состав моторных топлив, промышленных растворителей и других нефтепродуктов, выделяют в отдельную группу "топливных УВ". Особое внимание к их исследованию вызвано их гидрофобностью (низкой растворимостью в воде) и способностью существовать в почве одновременно в виде паров, сорбированной, жидкой и водной фаз, что существенно усложняет выявление механизмов их взаимодействия с компонентами окружающей среды [Солнцева, 1998; Mercer, 2004; Бреус, 2006].

Загрязнение почв УВ охватывает все компоненты экосистемы, в том числе обладающие высокой чувствительностью к нему растительные сообщества [Киреева, 2003; Оборин, 2008]. Чтобы иметь возможность управлять процессом снижения фитотоксичности УВ, необходимо учитывать совокупность факторов, определяющих их негативное воздействие, закономерности и механизмы его проявления. Особенно сильный стресс растения испытывают на этапе прорастания, во время которого решается сама возможность их существования [Киреева, 2003]. Кроме опосредованного влияния, связанного с трансформацией условий почвенной среды - главным образом, из-за увеличения гидрофобности и заполнения УВ порового пространства почвенных капилляров, а также развитием в почве микровицетов, образующих токсины [Пиковский, 1993; Назаров, 2005] – важным на этом этапе является их непосредственный токсический эффект при контакте с семенами [Adam, 2002]. Негативное влияние УВ на растения продолжается в течение всего периода вегетации; при этом не всегда растения с высокой всхожестью на загрязненных почвах в дальнейшем сохраняют устойчивость к поллютанту [Besalatpour, 2008]. Согласно литературным данным и результатам исследований, ранее проведенных в отделе Химии окружающей среды, фитотоксичность УВ зависит от состава и свойств загрязнителя, типа и свойств почвы, а также отличается у разных видов растений [Chaineau, 1997; Salanitro, 2001; Шаронова, Бреус, 2012]. Однако в связи с недостаточностью экспериментального материала и существенным взаимовлиянием факторов, воздействующих на токсичность загрязненной почвы для растений и почвенных микроорганизмов, необходимо расширить и обобщить имеющиеся данные и количественно оценить основные факторы, определяющие фитотоксичность УВ. Действие УВ на компоненты почвенно-растительной системы начинается с их сорбционного взаимодействия с поверхностью почвенных частиц, семян и корней растений, поэтому очевидно влияние процессов сорбции на фитотоксичность. Однако эти аспекты природы фитотоксичности в литературе практически не рассмотрены. Показано, что сорбционные взаимодействия в почвенной среде существенно влияют на степень биodeградации УВ [Salanitro, 2001; Денисова, 2009], однако многие закономерности в этой области остаются нераскрытыми или требуют существенного уточнения.

В связи с этим **целью данной работы** являлось выявление основных факторов, закономерностей и механизмов, определяющих фитотоксичность топливных углеводородов и условия ее снижения.

Для достижения этой цели были решены следующие **задачи**:

1) Выявить и количественно описать основные факторы - природу и фазовое состояние УВ, особенности строения семян, длительность контакта с УВ - влияющие на всхожесть при прямом контакте с типичными представителями топливных УВ.

2) Установить роль и вклад различных механизмов сорбции в прорастание семян в условиях прямого контакта с УВ.

3) Провести сравнительную оценку всхожести растений при прямом контакте с УВ и в условиях загрязнения почвы.

4) Выявить роль и количественно описать основные факторы, определяющие токсичность загрязненной УВ почвы для взрослых растений и почвенных микроорганизмов на примере системы «тридекан – почва - кукуруза».

5) Провести сравнительную оценку роли и вклада сорбционного, питательного и мелиоративного факторов, а также их сочетания, в усиление биodeградации УВ и снижение фитотоксичности загрязненной почвы.

Научная новизна и теоретическая значимость.

Впервые количественно описано влияние основных факторов, определяющих воздействие жидкой фазы и паров УВ на всхожесть семян при их прямом контакте. Установлено, что при этом, в отличие от почвенных условий, увеличение молекулярной массы УВ является негативным фактором, вызывающим снижение всхожести. Разработан методический подход к изучению механизмов взаимодействия семян с УВ, с помощью которого на примере тридекана оценена роль сорбционного фактора в загрязненной УВ почве. Дана количественная оценка зависимостей величин сорбции УВ от массы и удельной поверхности семян. Показано, что сорбция УВ реализуется в основном не на поверхности семени (адсорбция), а за счет проникновения УВ в семенную оболочку и внутренний объем семени (абсорбция).

На примере системы «тридекан- почва-кукуруза» количественно описаны основные факторы (кислотность, азотный режим, мелиоративный и сорбционный факторы, температурные условия вегетации), определяющие токсичность загрязненной почвы для взрослых растений и почвенных микроорганизмов. Выявлена и продемонстрирована возможность снижения фитотоксического эффекта УВ путем оптимизации сорбционных свойств почвенной среды при контролируемом введении в нее активных органических и органо-минеральных сорбентов.

Полученные результаты способствуют раскрытию механизмов воздействия гидрофобных органических загрязнителей на семена культурных растений, выявлению важной роли сорбционного фактора в проявлении фитотоксичности

топливных УВ на разных этапах развития растений, а также вносят вклад в концепцию восстановления загрязненных ими почв.

Практическая значимость и реализация результатов исследований.

В работе установлено, что воздействие паров летучих УВ практически в той же степени опасно для семян растений, что и контакт с жидкими УВ. Это означает, что неэффективная очистка газо-воздушных выбросов на химических и нефтехимических производствах, утечка паров УВ на нефтехранилищах и бензозаправочных станциях могут наносить экологический вред растениям, сопоставимый с уроном, причиняемым аварийными проливами нефти и нефтепродуктов. Экспериментально доказано, что органо-минеральные сорбенты являются перспективными стимуляторами биodeградации УВ в почве и могут использоваться при развитии новых технологий ремедиации сред, загрязненных органическими поллютантами (патент РФ № 2450872 от 20.05.12, Международная заявка РСТ № RU2011/000085 от 01.03.12). Полученные результаты используются при разработке технологии ремедиации почв, загрязненных УВ (в рамках проекта инновационного центра Сколково), основанной на интенсификации процессов их естественного самоочищения с помощью природных материалов и удобрений. Результаты исследований являются частью фундаментальной исследовательской темы грантов РФФИ и используются в учебном процессе КФУ при модернизации и разработке новых учебных программ.

Положения, выносимые на защиту

1. На стадии прорастания фактором, определяющим фитотоксичность загрязненной почвы, является сорбционное поглощение УВ семенами при их непосредственном контакте с учетом ослабления этого эффекта за счет сорбции и капиллярного удерживания УВ в почвенной среде.

2. На этапе вегетации влияние сорбционного фактора на фитотоксичность опосредовано и проявляется в совокупности с мелиоративным фактором и фактором азотного питания через изменение микробной активности почвы и степени биodeградации УВ.

3. Снижение фитотоксичности загрязненного УВ выщелоченного чернозема предполагает оптимизацию ряда эдафических факторов и сорбционных свойств почвенной среды в совокупности с оптимизацией уровня азотного питания. Совместная оптимизация этих факторов восстанавливает продуктивность растений кукурузы до уровня незагрязненной почвы.

4. Введение в состав торфо-аммиачных композиций низкостоймостного органо-минерального сорбента на основе ЦСП и катионного ПАВ в качестве активной сорбционной добавки существенно интенсифицирует биodeградацию УВ в загрязненной почве.

Связь темы диссертации с плановыми исследованиями.

Работа выполнена в отделе Химии окружающей среды КФУ в соответствии с планом госбюджетной темы НИР КФУ № 01200609653 «Теоретические и экспериментальные аспекты взаимодействия геосорбентов с экзогенными угле-

водородами» и в рамках грантов: РФФИ №06-04-49098 «Закономерности и механизмы влияния растений и минерального режима на поведение экзогенных углеводов в ризосфере лесостепных почв» и РФФИ № 09-04-01553 "Механизмы формирования фитотоксичности в почвах, загрязненных углеводородами", а также ФЦП Федерального агентства по образованию "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" (ГК П1382) «Физико-математическая модель биоремедиации загрязненных топливными углеводородами почв и компьютерная программа подбора оптимальных сценариев очистки».

Декларация личного участия автора. Автор провела полный анализ литературы, лично получила большинство экспериментальных данных и провела их анализ и обсуждение результатов, активно участвовала в написании статей и тезисов.

Апробация. Результаты исследований были представлены и докладывались на международных (Милан, Италия, 2008; Зальцбург, Австрия, 2010; Москва, 2007, 2009, 2010, 2011; Санкт-Петербург, 2011; Астрахань, 2007, 2009; Пушкино 2009, 2010); всероссийских (Санкт-Петербург, 2007, 2008; Астрахань, 2009) и республиканских (Казань, 2005, 2006, 2007, 2008) научных конференциях. Работы А.Ф. Халиловой, выполненные по теме диссертации, были удостоены премии по поддержке талантливой молодежи приоритетного национального проекта "Образование" в рамках Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2009» (Москва, 2009), премии «Конкурс проектов для аспирантов КГУ III года очного обучения» (Казань, 2010), стипендии фонда «Создание поколения будущего» (Казань, 2007), диплома за лучший доклад на научно-образовательной конференции студентов КГУ (Казань, 2007), а также диплома Всероссийского Открытого Конкурса студенческих работ в области развития связей с общественностью «Хрустальный Апельсин» (Казань, 2005).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 26 научных работ, из них 6 статей в центральных журналах, 13 статей в сборниках материалов конференций и 7 тезисов докладов, Патент РФ и Международная заявка РСТ.

Структура и объем работы.

Диссертация состоит из введения, трех глав, выводов, научно-практических рекомендаций, списка литературы (205 источников, из них 115 иностранных). Работа изложена на 138 страницах машинописного текста, включает 4 рисунка и 12 таблиц, а также Приложение на 22 стр. (7 рис., 7 табл.)

Благодарности.

Автор выражает глубокую признательность научному руководителю зав. отделом Химии окружающей среды КФУ проф., д.б.н. Бреус И.П. за внимательное отношение к работе; к.х.н. Неклюдову С.А. за консультации при проведении экспериментов, ведущему инженеру Чистовой В.А. за помощь при проведении агрохимических анализов, а также всем коллегам и соавторам публикаций.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Объекты и методы исследований

Прямой токсический эффект УВ на всхожесть изучали в лабораторных опытах в чашках Петри в термостате при 28°C при непосредственном контакте разной длительности (от 20 мин до 8 часов) с покоящимися семенами. Были исследованы типичные представители жидких УВ, входящих в состав моторных топлив, бензиновой и дизельной фракций нефти: алифатический н-тридекан (ТД), моноароматические бензол и толуол и полиароматический 1-метилнафталин (МН). Сравнительное изучение фитотоксичности бензола и толуола проводили в жидкой и газообразной фазе; этот аспект в настоящее время практически не изучен. Выбор опытных культур (типичных представителей семейств мятликовые и бобовые) проводили с учетом литературных данных, а также результатов исследований нашего отдела, которые характеризуют их как устойчивые и наиболее изученные в условиях загрязнения УВ. Для опытов по прямому контакту с УВ использовали растения с разным размером семян: кукурузу обыкновенную, *Zea mays* L.; сорго сахарное *Sorghum saccharatum* Poiry, и суданское, *S. Sudanense* (Piper) Stapf; райграс пастбищный, *Lolium perenne* L. (мятликовые), а также вику посевную, *Vicia sativa* L. (бобовые). Вегетационные опыты проведены с кукурузой - одной из основных сельскохозяйственных культур республики Татарстан, проявившей наибольшую устойчивость к УВ в почвенной среде [Денисова, 2009]. Все семена были предоставлены НПО «Нива Татарстана».

Всхожесть определяли по числу проросших на 7-й день семян в % от общего количества [ГОСТ 12038-84]; степень впитывания (абсорбции) УВ - по разности массы семени до и после впитывания; удельную поверхность семени - из отношения площади поверхности (измеряли микрометром с последующим расчетом по формулам сжатого эллипсоида - для вики, вытянутого эллипсоида - для райграса и сорго, прямоугольного параллелепипеда - для кукурузы) к его массе; величину адсорбции ТД на семенах - с помощью сорбционного подхода из значений объема его монослоя и числа монослоев на поверхности семени; величины поглощения оболочкой семян - по разности объемов набухшей и не набухшей в ТД оболочки с учетом его плотности; количество УВ, поступившее во внутренний объем семени - вычитанием из общей сорбционной емкости величин адсорбции и в оболочке. Содержание массовой доли белков в семенах определяли по ГОСТ 10846-91; содержание жира - путем извлечения растворителем в аппарате Сокслета по ГОСТ 10857-64. Всего в опытах с семенами было изучено 240 вариантов (5 видов растений, 6 УВ, 8 сроков контакта).

Лабораторный опыт по определению всхожести кукурузы в условиях загрязнения ТД и МН проводили на почвах, типичных для районов интенсивной добычи и переработки нефти в РТ: выщелоченном черноземе, среднемощном, среднегумусном, тяжелосуглинистом, с высокой сорбционной емкостью (pH_{KCl}

5,7; $C_{\text{орг}}$ по Тюрину 3,99%) и серой лесной, среднесуглинистая (рН 5,6; $C_{\text{орг}}$ 0,82%).

Вегетационные опыты проводили в течение трех лет (2007-2009 г.г.) в вегетационных сосудах с поддонами в специально оборудованной теплице на территории Казанского городского Эколого-биологического центра юннатов в естественных условиях (температура, освещение) на выщелоченном черноземе. В связи с большей масштабностью загрязнения природной среды алифатическими УВ эти опыты были проведены с н-тридеканом, молекулярный вес которого наиболее близок к среднему значению молекулярно-массового распределения УВ дизельного топлива, а физические и токсикологические свойства благоприятны для экспериментальных исследований. Изучали уровни загрязнения ТД 1% и 2%, характеризующие соответственно слабую и среднюю степень загрязнения почвы [Методические рекомендации ...1995]. При установлении факторов и поиске условий снижения фитотоксичности загрязненной УВ почвы использовали распространенные дешевые природные материалы (5% от массы почвы): низинный торф Владимирской области (рН_{KCl} 3,2; Сорг. 36,1%; валовый фосфор 0,37%; Нобщ 2,7%) и цеолитсодержащую породу Татарско-Шатрашанского месторождения РТ (ЦСП, клиноптилолит 12,0%, полевошпат 2,0%, кварц 17,5%, смектит 20,3%, кальцит 18,1%, опал-кристобалит 25,8%). Кроме того, изучали эффекты азотного удобрения (аммиачной селитры) в дозах 0,3 и 0,6 г N/кг (рекомендованы как эффективные по результатам предыдущих исследований) и 0,9 г N/кг, а также синтезированный в нашем отделе низкостоимостный органоминеральный сорбент (ОМС) на основе ЦСП и катионного ПАВ (гексадецилтриметиламмония) [Бондырев, 2010] в дозе 0,5 масс.%. Для корректировки кислотности почвы использовали доломитовую муку Матюшинского месторождения РТ (< 0,25 мм), 3,0 г CaCO₃/кг. Длительность опытов 62-69 дней. Всего в вегетационных опытах за три года было изучено 54 варианта.

Агрохимические характеристики почвы и торфа определяли по стандартным методическим указаниям [Ягодин, 1987, Воробьева, 2006]; надземную и корневую биомассу растений – путем взвешивания [Практикум..., 2001]; респираторную активность (базальное дыхание, V_{basal}) по скорости продуцирования CO₂ [Благодатская, Ананьева, 1996] на газовом хроматографе "Кристаллюкс-4000"; численность аэробных углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) методом посева на агаризованные селективные среды [Методы почвенной..., 1991]; содержание УВ в экстрактах (CCl₄) почвы - на газо-жидкостном хроматографе "Кристаллюкс-4000" с капиллярной колонкой и ПИД. Повторность опытов 3-х кратная. Результаты обрабатывали с помощью стандартного метода дисперсионного анализа однофакторного комплекса [Доспехов, 1985]. Достоверность различий между вариантами оценивали по величине HSP_{05} с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

Основные факторы и механизмы проявления фитотоксичности почвы, загрязненной углеводородами, и условия ее снижения

1. Основные факторы, влияющие на прорастание семян различных видов растений

Фитотоксичность гидрофобных загрязнителей существенно варьирует. В исследованиях, посвященных влиянию топливных УВ на всхожесть семян в почве, наибольшей фитотоксичностью характеризуются моноароматические УВ - вследствие большей летучести и растворимости в сравнении с наименее токсичными мало летучими алифатическими УВ [Henner, 1999]. При этом степень угнетения прорастания семян определяется как эдафическим фактором: ухудшением водно-воздушных свойств почвенной среды, изменяющим условия транспорта УВ к поверхности семян – так и непосредственным воздействием УВ на семена. В настоящее время закономерности проявления первого фактора в значительной степени изучены, однако механизм прямого воздействия гидрофобных УВ, а также соотношение обоих факторов в их влиянии на всхожесть остаются не выясненными. Существуют лишь предположения, в большинстве сводящиеся к представлениям об адсорбционном блокировании УВ поверхности семян [Duncan, 2002]. В данной работе для выяснения природы прямого токсического действия УВ был применен подход, предусматривающий количественную оценку их сорбционного взаимодействия с семенами.

Всхожесть семян при прямом контакте растений с УВ

При прямом воздействии любого УВ на семена общей тенденцией для всех растений было снижение всхожести по мере возрастания длительности контакта, **Рис. 1**. При этом степень ингибирования прорастания усиливалась с ростом гидрофобности и молекулярного веса УВ.

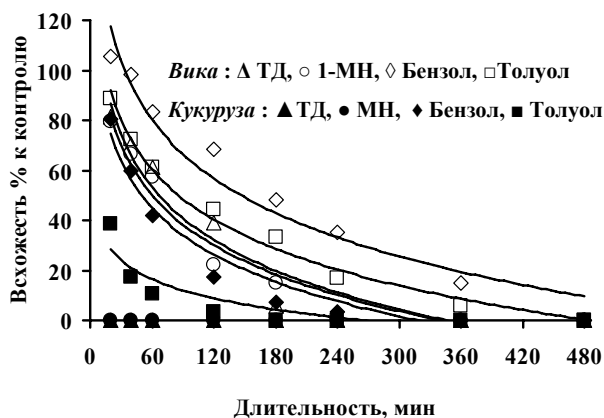


Рис. 1. Всхожесть семян при прямом контакте с жидкими УВ в зависимости от их природы и длительности контакта. В качестве примера приведены результаты для наиболее (вика) и наименее (кукуруза) устойчивых культур.

Так, наиболее гидрофобные и высокомолекулярные ТД и МН уже после 20 минут контакта полностью подавляли всхожесть семян кукурузы и обоих видов сорго; всхожесть отмечали только у семян вика (82 и 80%) и райграса (2 и 17% соответственно). В жидком бензоле и толуоле устойчивость семян к загрязнению возрастала в ряду: кукуруза < райграс < сорго (оба вида) ~ вика, т.е. семена вика и сорго были наиболее устойчивы, а семена кукурузы - наиболее подвержены воздействию УВ (**Рис. 1**). Токсичность УВ возрастала в ряду, общем для всех культур: бензол

(жидкий) < бензол (пары) = толуол (пары) < толуол (жидкий) < МН ~ ТД. Полученные данные указывают на близость токсичности жидких и парообразных моноароматических УВ, и следовательно - на недопустимость недооценки экологической опасности для растений УВ из атмосферы, сопоставимой с проливами жидких УВ.

Для выявления роли сорбционного фактора в токсичности УВ для семян и механизмов его действия были определены величины сорбции УВ семенами. Результаты показали, что семена всех культур сорбировали как жидкие УВ, так и их пары. С увеличением длительности контакта сорбция возрастала, не достигая полного насыщения даже за 8 часов опыта. Сорбционное воздействие жидкой и паровой фаз УВ на семена было сопоставимым, а в случае сорго суданского сорбция паров была даже выше (после 8 часов контакта - почти в 2 раза). По сорбционной активности семена разных культур располагались в общий для всех УВ возрастающий ряд: кукуруза < вика << сорго суданское ~ сорго сахарное << райграс. При этом чувствительность всех семян к природе токсиканта изменялась в течение сорбционного эксперимента: в начале процесса сорбции гидрофобные МН ($K_{ow}=3,87$) и ТД ($K_{ow}=7,2$) были наиболее активны, а при длительном контакте лучше сорбировались менее гидрофобные, имеющие меньший размер молекул, моноароматические бензол и толуол ($K_{ow}=2,12$ и $2,74$).

Такие закономерности указывали на важную роль в сорбции не только эффектов гидрофобности, но и диффузии УВ, вероятно связанной с различиями в вещественном составе семян.

Мы попытались сопоставить величины сорбции УВ семенами с полученными нами данными по содержанию в них белков и жиров, однако общих для семян всех культур зависимостей выявить не удалось. В то же время, начиная с длительности контакта более 1 часа, была отмечена обратная зависимость величин сорбции УВ семенами от их массы (**Рис. 2**). Эти результаты вызваны проявлением двух факторов, действующих отдельно или одновременно – диффузии (абсорбции) и поверхностной сорбции на семенах (адсорбции). Для оценки их вкладов мы провели сравнение величин сорбции с удельной поверхностью семян (**Рис. 3**), рассчитанной на основе измерения их внешних параметров. Сопоставление показало, что определяющую роль в общей сорбции играет не адсорбция, а диффузия, т.е. процесс проникновения УВ в оболочку и далее - во внутренний объем семени. Отклонения от прямой зависимости указывали, что величину сорбции УВ определяют не только удельная поверхность, но и определенные морфологические особенности семян.

Эти выводы были подтверждены в ходе количественной оценки локализации УВ в семенах и выяснения механизмов сорбции. Для этого мы оценили вклады отдельных составляющих в общую сорбцию семенами на примере ТД. В рамках концепции, базирующейся на физических основах сорбционных процессов [Горбачук, 1996; Бреус, 2006; Fei Lian, 2011], и с учетом морфологии семян нами были определены величины адсорбции ТД на семенах; абсорбции

(поглощения) ТД оболочкой семян и количество ТД, поступившее во внутренний объем семени. В результате показано, что у всех культур после 8-часового контакта подавляющая часть (свыше 90%) ТД сорбировалась во внутренней биомассе семян. Столь глубокое сорбционное воздействие УВ на семена, несомненно, должно было вызвать изменение их всхожести.

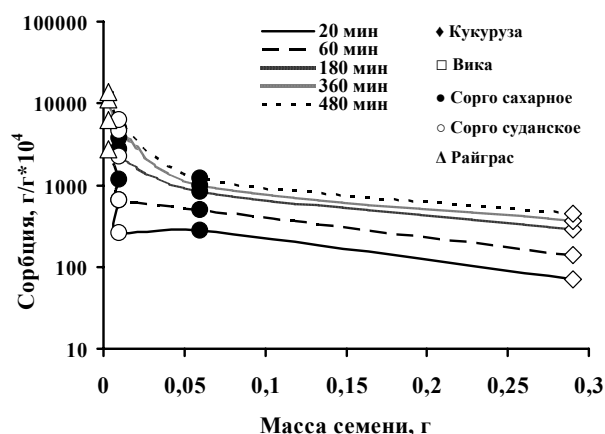


Рис. 2. Зависимость между поглощением (сорбцией) ТД семенами и их массой при различной длительности контакта. В качестве примера приведены результаты для 5 времен контакта.

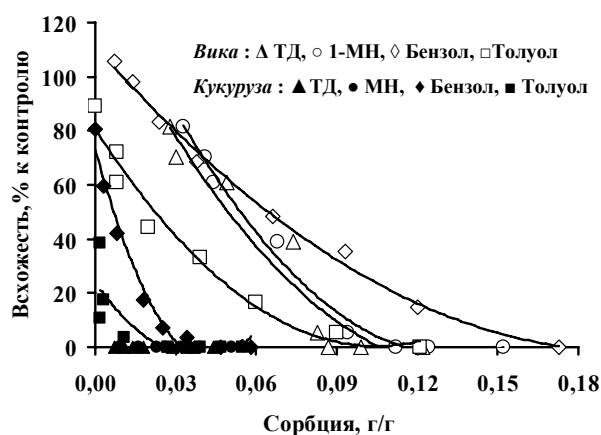


Рис. 4. Связь между величинами всхожести и сорбции семян вики и кукурузы в зависимости от природы УВ и длительности контакта. В качестве примера приведены результаты для наиболее (вика) и наименее (кукуруза) устойчивых культур.

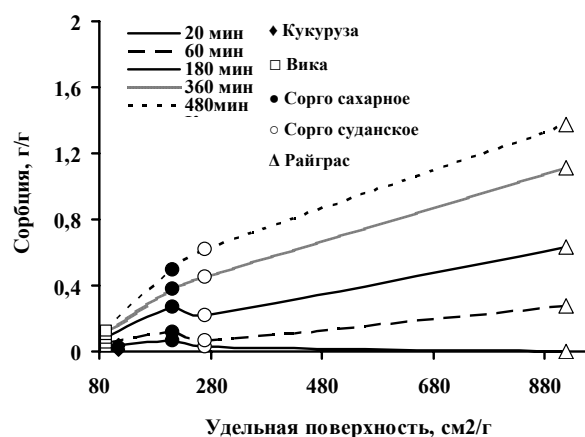


Рис. 3. Сравнение поглощения (сорбции) ТД семенами изученных культур в зависимости от их удельной поверхности при различной длительности контакта с УВ. В качестве примера приведены результаты для 5 времен контакта.

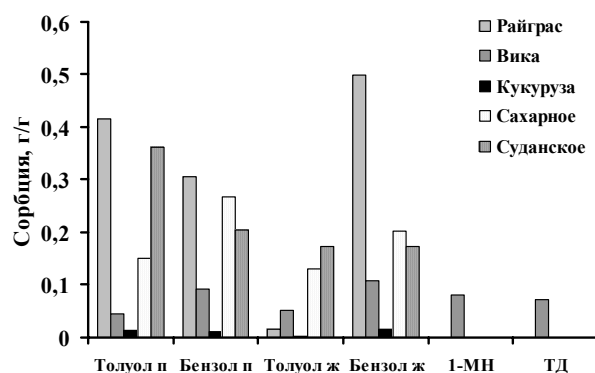


Рис. 5. Количество УВ, поглощенного (сорбированного) изученными культурами при относительной всхожести их семян 25%.

Сопоставление эффектов прорастания с величинами сорбции подтвердило, что для всех культур токсичность УВ определялась количеством впитавшегося загрязнителя: чем больше УВ проникало в семя с ростом длительности контакта, тем ниже была всхожесть конкретного растения (**Рис 4**). При переходе от одного вида к другому на эту зависимость накладывалось влияние морфологических особенностей семян. В ряде случаев это привело к близкой всхожести семян разных культур, существенно отличающихся содержанием УВ. Так, наи-

более сорбционно-активные семена райграса и семена сорбционно-инертной кукурузы (**Рис. 5**), существенно (в 25 раз) различающиеся по количеству впитавшегося жидкого бензола, имели одинаковую всхожесть (25%). Проведенное разделение общей сорбции на вклады позволило высказать ряд предположений о взаимосвязи интенсивности разных типов сорбционного связывания УВ с особенностями строения семян. Так, для поверхностной сорбции ведущую роль играют величина удельной поверхности и масса семени, а также структурные особенности поверхности плодовой и семенной оболочки, наличие цветковых чешуй. Например, из изученных видов наиболее сорбционно активными были семена райграса, имеющие наибольшую удельную поверхность, наименьшую массу, а также цветковые чешуи, увеличивающие сорбцию. Степень связывания УВ в семенной оболочке, прежде всего, зависит от ее строения и толщины: так, для обоих видов сорго, имеющих ее наибольшую толщину, отмечена повышенная сорбция ТД оболочкой. Сорбция УВ в биомассе семени во многом определяется ее плотностью, зависящей от содержания питательных веществ и массы семени: наибольшее содержание гидрофобных липидов в семенах сорго коррелирует с количеством впитавшегося загрязнителя. С этих позиций объясняются и различия в сорбции ТД семенами двух видов сорго. Так, для сорго суданского характерны большая интенсивность адсорбции ТД (вследствие большей удельной поверхности семян) и сорбции в их биомассе (при более высоком содержании в ней липидов и белков), тогда как более толстые семенные покровы сорго сахарного задерживают поллютант в оболочке. В случае всех изученных культур основная доля удержанных УВ накапливается в биомассе семян (от 94 до 99%), а распределение оставшихся УВ между поверхностью (адсорбция) и оболочкой зависит от особенностей их строения. Так, наибольшая, в сравнении с другими культурами, доля ТД в оболочке семени кукурузы, возможно, связана с ее многослойностью, а наименьшая - в семенной оболочке обоих видов сорго - с содержанием крахмальных гранул в мезокарпии.

В свою очередь при анализе зависимостей между сорбцией УВ семенами и их всхожестью при прямом контакте следует учитывать, наряду с факторами, определяющими сорбционную активность покровов и биомассы, влияние других характеристик семени – в частности, степень развития зародыша и его расположение. Так, наименее развитый зародыш вики был более устойчив к проникновению ТД в семя, а высокоразвитый зародыш кукурузы, занимающий более половины объема семени, испытывал наиболее сильное воздействие ТД, несмотря на незначительную величину сорбции. Особое значение для всхожести имеет также степень гидрофобизации поверхности семени, препятствующая поступлению в него влаги. Можно предположить, что одной из причин существенно большей - в сравнении с семенами мятликовых культур - устойчивости семян вики является наличие непосредственно под кутикулой (перед палисадными клетками) слоя слизи, способной снижать гидрофобность поверхности, вызванную адсорбцией УВ.

Наряду с отмеченными выше ярко выраженными закономерностями, в ряде случаев нами выявлены отклонения от полученных зависимостей сорбционного связывания УВ семенами. Отсутствие общих для изученных культур закономерностей связано с явной недостаточностью литературных данных об анатомо-морфологических и физиологических особенностях семян. Развитие исследований в этой области позволит углубить понимание взаимосвязей между сорбционным воздействием загрязнителя на семена, с одной стороны, и их строением и физиологией, с другой.

Сравнение всхожести растений при прямом контакте с УВ и в условиях загрязнения почвы

Сравнение результатов по фитотоксичности УВ при прямом контакте с экспериментальными данными по всхожести в загрязненной почве - где влияние УВ на прорастание в основном реализуется опосредованно - выявило ряд принципиальных различий как для УВ разной природы, так и для изученных растений. Если при прямом воздействии рост молекулярной массы/гидрофобности УВ был негативным фактором для всхожести (наиболее токсичными были МН и ТД), то в почвенных условиях ТД был намного менее токсичен, чем МН. Второе отличие состояло в низкой (в сравнении с изученными растениями) устойчивости кукурузы при прямом контакте с УВ и высокой – в почве.

Одна из главных причин этих различий заключается в важной роли факторов летучести и растворимости УВ в почвенной среде. Воздействие УВ на семена в почве реализуется, в основном, за счет переноса паров загрязнителя и его водного раствора; этим обусловлена меньшая токсичность ТД как наименее летучего и наименее растворимого из изученных УВ. С учетом преимущественного воздействия паров УВ в почве находит объяснение и высокая всхожесть семян кукурузы. В нашем опыте показано, что в отличие от других культур, сорбция семенами кукурузы паров УВ была в 2,5-3 раза ниже, чем жидких УВ. Вопрос о том, насколько это обусловлено анатомо-морфологическими и физиологическими особенностями семян, требует дальнейшего исследования. Вторая причина различий во влиянии УВ на всхожесть при прямом контакте и в почвенных условиях связана с сорбционной активностью самой почвы. Так, при сравнении прорастания кукурузы в загрязненных ТД выщелоченном черноземе ($C_{орг.} 3,99\%$) и серой лесной почве ($C_{орг.} 0,82\%$) мы выявили более сильное угнетение всхожести в последнем случае, т.е. в почве с более низким содержанием органического вещества (основного сорбента ТД): в черноземе в зависимости от уровня загрязнения всхожесть составляла 20-93%, а в серой лесной почве 4-84%.

Таким образом, токсическое действие УВ на семена многопланово и зависит как от природы загрязнителя и условий контакта, так и от морфологических и анатомических особенностей семян.

2. Рост и накопление биомассы растениями кукурузы и состояние микробоценоза в условиях загрязнения почвы тридеканом

Уровень загрязнения не только является одним из важнейших факторов, влияющих на токсичность загрязненной почвы для взрослых растений, но и определяет степень проявления многих других факторов. Его действие было оценено нами в вегетационных опытах в течение 3-х лет. Результаты представлены в **Таблице 1** в виде соотношения значений каждого показателя в почве без загрязнения и с ТД.

Таблица 1. Влияние загрязнения почвы тридеканом на биометрические характеристики растений кукурузы и показатели состояния почвенного микробоценоза в трехлетних вегетационных опытах

ФАКТОР: Уровень загрязнения почвы / Показатель в опыте	2007 г. ¹ (26,8°C)	2008 г. (25,9°C)		2009 г. (24,4°C)	
	1% ТД	1% ТД	2% ТД	1% ТД	2% ТД
Высота растений*	1,9	1,8	2,1	2,4	2,2
Биомасса надземная*	8,1	4,7	8,2	6,5	7,0
Биомасса корневая*	4,7	2,1	2,6	1,2	1,3
Соотношение масс Надземная/Корни**	2,1/1,2	0,7/0,3	0,7/0,2	1,6/0,3	1,6/0,3
V _{basal} в незасеянной почве***	1,13	1,4	0,7	0,7	0,7
V _{basal} под кукурузой***	1,2	0,9	0,9	0,5	0,6
УОМ в незасеянной почве ***	51,1	6,3	2,7	2,3	19,3
УОМ под кукурузой***	2,1	5,0	4,6	5,9	12,9
Степень биodeградации ТД в незасеянной почве, %	95,2	89,3	83,6	81,0	69,0
Степень биodeградации ТД в почве под кукурузой, %	92,9	86,4	79,3	71,6	62,5

¹ В скобках приведены максимальные температуры, усредненные для периода июль-август

* Эффект загрязнения как отношение показателя в вариантах «без ТД / загрязнение ТД»

** Соотношение биомасс в незасеянной / в загрязненной почве

*** Эффект загрязнения как отношение показателя в вариантах «загрязнение ТД / без ТД»

Из анализа данных следует, что загрязнение выщелоченного чернозема ТД было токсичным и для взрослых растений кукурузы, причем существенное влияние оказывали погодные условия. В сезоне 2007 г. - самом теплом по температурному фону, с максимальным числом жарких дней, условия для роста и накопления биомассы были наиболее благоприятными, однако эффект загрязнения для надземной и корневой биомассы - наиболее значимым (вследствие ухудшения водно-воздушного режима и режима минерального питания) (**Табл. 1**). Во все годы ингибирование накопления надземной биомассы, вызванное ТД, в целом было выражено сильнее, чем линейного роста и биомассы корней. Дозозависимый характер влияния ТД на биометрические параметры был неустойчивым: токсический эффект концентрации ТД 1% был значительным во все го-

ды исследований, но дальнейшее увеличение уровня загрязнения до 2% не всегда вызывало его усиление.

Активность микробоценоза загрязненной почвы была более чувствительной (уменьшалась сильнее) к снижению температуры, чем незагрязненной, (Табл. 1). При увеличении дозы ТД величина эффекта загрязнения для V_{basal} в целом (кроме 2008 г.) не менялась, вне зависимости от наличия растений. Однако их присутствие в почве оказывало в целом в трехлетних опытах ингибирующее влияние на абсолютные величины V_{basal} , особенно при 1% ТД.

Одной из явных причин выявленных тенденций является конкуренция почвенных микроорганизмов и растений за биогенные элементы. В загрязненной почве преимущественное развитие получают УОМ, для питания которых необходимо наличие УВ и элементов питания, прежде всего азота. Если на использование УВ растения не претендуют, то за азот между ними и УОМ наблюдается острая конкуренция, вызывающая взаимное ухудшение режима питания. Очевидно, этот фактор является одним из основных, регулирующих фитотоксичность почвы, поэтому он требует количественной оценки, результаты которой обсуждаются далее.

Влияние погодных условий было особенно выражено для процессов деструкции ТД. При обоих уровнях загрязнения они наиболее интенсивно протекали в самый теплый сезон и ослабевали по мере снижения температурного фона в последовательности: 2007 > 2008 > 2009 гг. При уровне исходного загрязнения 2% ТД, степень биodeградации в конце опытов была ниже, чем при 1%. В целом результаты свидетельствовали о высоком потенциале самоочищения выщелоченного чернозема: к окончанию всех опытов длительностью 62-69 суток в почве оставалось от 5 до 37% исходного ТД (Табл. 1).

3. Основные факторы снижения фитотоксичности почвы, загрязненной УВ

Кислотность почвенной среды. Количественная оценка эффекта кислотности на токсичность ТД для растений кукурузы и почвенных микроорганизмов была проведена путем сравнения результатов вегетационного опыта с кукурузой на предварительно известкованной почве с опытом на той же, но кислой почве, ранее проведенным по идентичной схеме [Денисова, Халилова, 2007]. Полученные данные указывали на интенсификацию процессов разложения ТД (значительное повышение численности УОМ, рост степени биodeградации) при уменьшении почвенной кислотности с pH 5,5 до pH 7,0. Снижение токсичности загрязненной почвы в свою очередь отразилось на биометрических характеристиках кукурузы: при нейтрализации среды высота растений увеличилась в 1,9, а прирост надземной биомассы - в 8,1 раза. С учетом этих результатов все вегетационные опыты были проведены нами в условиях нейтральной реакции почвенной среды.

Режим азотного питания почвы. Несмотря на несомненную важность обеспечения растений и почвенных микроорганизмов минеральным азотом в условиях почвенного загрязнения, вопрос о характере и механизмах его влияния на фитотоксичность загрязненных УВ почв не имеет однозначного ответа. С целью выявления роли азотного режима в снижении фитотоксичности загрязненной почвы были проведены вегетационные опыты, включающие варианты с использованием разных доз аммиачной селитры (0,3 г N/кг; 0,6 г N/кг и 0,9 г N/кг).

Результаты показали, что чувствительность почвенного микробоценоза к внесению азота во многом зависела от наличия растений. Внесение любой дозы азота в загрязненную почву под кукурузой стимулировало почвенное дыхание и рост численности УОМ, существенно больший в сравнении с незасеянной почвой (6-29 раза) (Табл 2). В итоге при обоих уровнях загрязнения добавление азота вызвало повышение степени биодegradации ТД как в незасеянной почве, так и под растениями. Под кукурузой степень биодegradации была достоверно ниже, что однозначно указывало на конкуренцию растений и УОМ за биогенный азот. При введении аммиачной селитры дефицит питания устранялся, и показатели степени биодegradации в засеянной и незасеянной почве выравнивались. Оптимальный питательный режим устанавливался при добавлении в почву 0,6 г N/кг, что и отразилось на повышении уровня дegradации ТД на 13-23% при 5,6-9,9 кратном снижении его содержания в почве относительно вариантов без внесения азота. Повышение количества введенного азота до 0,9 г N/кг было чрезмерным, поскольку не увеличивало степень биодegradации ТД.

Таблица 2. Влияние уровня азотного питания на токсичность тридекана для растений и почвенных микроорганизмов в двухлетних вегетационных опытах.

ФАКТОР: Уровень азотного питания/ Уровень загрязнения почвы/ Показатель в опыте	N/кг почвы					
	0,3 г	0,6 г	0,6 г	0,9 г	0,6 г	0,9 г
	1% ТД				2% ТД	
	2007 г.		2008 г.			
Высота растений*	1,5	2,0	2,2	2,2	2,2	2,3
Биомасса надземная*	3,4	7,9	7,8	8,3	8,9	9,3
Биомасса корневая*	3,0	3,7	2,7	2,5	3,1	2,4
Соотношение биомасс Надземная/Корни**	1,2/1,4	1,2/2,5	0,3/0,9	0,3/1,0	0,2//0,7	0,2/0,9
V _{basal} *	1,2	1,4	1,1	1,6	1,2	1,6
УОМ *	8,8	6,1	8,8	13,3	29,3	24,7
Степень биодegradации ТД, %***	92,9/95,2	92,9/99,2	86,4/97,6	86,4/95,6	79,3/97,9	79,3/96,6

* Соотношение значений показателя в почве с кукурузой с добавлением / без добавления минерального азота (аммиачной селитры)

** В почве с кукурузой без добавления/с добавлением минерального азота

*** В почве под кукурузой без добавления / с добавлением минерального азота

Следствием этих эффектов были закономерности влияния азотного режима на биометрические показатели растений (**Табл. 2**). Если добавление 0,3-0,6 г N/кг усилило линейный рост кукурузы, то в интервале 0,6-0,9 г N/кг дозозависимый характер его влияния не проявился и не было отмечено прироста надземной биомассы кукурузы. Совокупность данных подтверждает выбор дозы 0,6 г N/кг в качестве оптимальной. После ее введения в чернозем, загрязненный 1 и 2% ТД, продуктивность кукурузы, характерная для незагрязненной почвы, полностью восстановилась, а в 2008 г. была не ниже (при 1% ТД), чем без загрязнения при том же уровне азотного питания. Как и для надземной биомассы, на фоне 0,6 и 0,9 г N/кг фитотоксическое действие ТД на биомассу корней отсутствовало, и происходило полное восстановление ее величины.

Роль мелиоративного и сорбционного фактора в снижении фитотоксичности почвы. Снижение токсичности загрязненных УВ почв путем стимуляции УОМ за счет введения в почву природных материалов минерального и растительного происхождения рассматривают в качестве эффективного и экономичного метода [White, 2003; Kriipsalu, 2007; Kaimi, 2007; Lee, 2008]. Однако влияние таких биостимуляторов на фитотоксичность мало исследовано, а имеющиеся результаты противоречивы. Считается, что в основе их действия лежит эффект мелиорации, преимущественно улучшение водно-воздушных свойств почвы, что особенно важно в случае гидрофобных нефтяных и топливных УВ. Однако явно недостаточно внимания обращается на роль сорбционного фактора в процессах их взаимодействия с компонентами загрязненной почвенной среды. Действие этих двух факторов тесно переплетается, поскольку природные материалы часто обладают одновременно и мелиоративными свойствами, и способностью к сорбционным взаимодействиям.

В вегетационном опыте нами был количественно оценен эффект добавления низинного торфа на токсичность ТД для растений кукурузы и почвенных микроорганизмов, в том числе - в сравнении с эффектом местной цеолитсодержащей породы (ЦСП), сильное активирующее действие которой на почвенный микробоценоз было установлено в ранее проведенном на том же выщелоченном черноземе опыте [Денисова, Халилова, 2011].

В присутствии ЦСП, несмотря на повышение респираторной активности почвы (в том числе загрязненной), биodeградация ТД несколько замедлялась, (**Табл 3**). Напротив, при добавлении торфа не отмечали значительного увеличения величин V_{basal} как незагрязненной, так и загрязненной почвы, но наблюдали существенное усиление биodeградации, особенно под кукурузой: при 1% ТД в исходной почве – на 32%, при 2% – на 28%. К концу опытов с 1% ТД его остаточное содержание под кукурузой при добавлении торфа составляло 0,05 масс.% - почти на порядок ниже, чем в почве с ЦСП (0,41 масс.%), содержавшей достаточные для поддержания активной деятельности УОМ количества ТД. Результатом более интенсивной биodeградации ТД на фоне торфа была большая, в сравнении с ЦСП, степень снижения фитотоксичности загрязненной почвы

(прирост надземной массы кукурузы от торфа 1,5 раза при его снижении на 6% от ЦСП) (Табл. 3).

Таблица 3. Сравнение влияния низинного торфа и ЦСП на токсичность тридекана для растений и почвенных микроорганизмов

ФАКТОР: Почвенный сорбент-мелиорант/ Уровень загрязнения / Показатель в опыте	Торф низинный			ЦСП	
	0	1% ТД	2% ТД	0	1% ТД
Высота растений*	1,16	1,35	1,07	0,98	1,12
Биомасса надземная*	1,5	1,4	1,5	0,9	0,9
Биомасса корневая*	1,4	0,8	1,2	-	-
Соотношение масс Надземная/Корни**	1,6/1,6	0,3/0,5	0,3/0,4	-	-
V _{basal} под кукурузой	0,9	0,9	1,3	2,9	1,2
УОМ под кукурузой	0,9	1,2	1,2	0,7	0,6
Степень биодegradации ТД, %***		71,6/ 94,6	62,5/ 80,0		65,9/ 59,2

* Соотношение значений показателя в почве с добавлением сорбента/без сорбента

** Соотношение значений показателя в почве без / с добавлением сорбента

*** В почве под кукурузой без сорбента / с добавлением сорбента

Для выявления причин различного влияния ЦСП и торфа на биодegradацию ТД были рассмотрены их составы, механические и физико-химические свойства. На наш взгляд, основная причина замедления биодegradации ТД под воздействием ЦСП – несмотря на ее хорошие мелиоративные свойства - высокая микропористость ее первичной структуры: попадающие внутрь микропор УВ становятся недоступными для УОМ. Торф, благодаря разнообразному компонентному и химическому составу, является одновременно мелиорантом, органическим удобрением, а также содержит биогенные элементы, прежде всего азот [Авдонин, 1982], который также вносит вклад в эффект торфа в отношении усиления биодegradации нефтяных и топливных УВ.

Для выявления причин различного влияния ЦСП и торфа на биодegradацию ТД были изучены их составы и физико-химические свойства. Сделано предположение о том, что основной причиной выявленных различий, наряду с отличиями в мелиоративных и питательных свойствах, являются сорбционные особенности этих почвенных добавок. Анализ сорбционных емкостей ЦСП и низинного торфа в отношении УВ в широком интервале влажности среды показал, что в сухих средах активность ЦСП в 2,3 раза выше, чем торфа, но с ростом увлажнения соотношение их активностей изменяется в пользу торфа, а в условиях полной гидратации торф сорбирует в 4,7 раза больше УВ по сравнению с ЦСП. Роль сорбционной активности природных материалов как фактора усиления биодegradации УВ была подтверждена в опытах по введению в почвенную среду еще более активных, чем торф, сорбентов. Результаты этих исследований обсуждаются нами далее.

Эффект совокупного влияния факторов на фитотоксичность почвы.

Для количественной оценки эффектов совокупного влияния факторов (мелиоративного, питательного и сорбционного) на фитотоксичность выщелоченного чернозема, загрязненного 1 и 2 % ТД, нами был проведен вегетационный опыт с внесением в почву смесей торфа, аммиачной селитры (0,6 г N/кг) и ЦСП.

В отсутствии растений введение в загрязненную почву двух композиций («торф+аммиачная селитра» и «торф+аммиачная селитра+ЦСП» с оптимальной дозой 0,6 N г/кг) в большей степени, чем при введении только торфа, способствовало росту численности УОМ: при исходном 1%ТД - в 1,4 и 1,8 раза, при 2% ТД - в 2,1 и 1,5 раза, а также снижению содержания ТД в почве.

Наличие растений не изменило установленного в опытах с незасеянной почвой соотношения в эффективности внесенных материалов. По-прежнему наиболее активными для биостимуляции были композиционные материалы. Добавление композиции торф+N в загрязненную почву усилило ее респираторную активность в 2 (при 1 и 2% ТД) раза, численность УОМ - в 2 (при 1% ТД) раза, а содержание остаточного ТД в почве к концу опыта снизилось до 0,033 (при исходном 1% ТД) и 0,026 (при 2% ТД) г/100г почвы. Эффективным было и влияние композиции торф+N+ЦСП, вызвавшей усиление почвенного дыхания в 1,5 (при 1% ТД) раза, численность УОМ - в 1,8 (при 1% ТД) раза, и еще большее снижение содержания остаточного ТД – до 0,007 (при 1% ТД) и 0,014 (при 2% ТД) г/100г почвы. Степень биodeградации ТД к концу опыта в вариантах с композицией торф+азот составила 96,7-98,7%, а в варианте торф+азот+ЦСП - 99,3% от исходного содержания ТД.

Таким образом, введение композиций на основе торфа и азотного удобрения в наибольшей степени способствовало снижению токсичности загрязненного ТД выщелоченного чернозема. Следствием этого явилось усиление роста и накопления биомассы растениями. Совместное использование торфа и аммиачной селитры имело синергетическое действие, выразившееся в 2-3-х кратном (при 2% и 1% ТД) усилении линейного роста (на загрязненной почве он не только восстанавливался, но и был выше, чем в незагрязненном контроле) и резком увеличении биомассы кукурузы: при 1% ТД в 12, а при 2% ТД - в 15 раз. Введение ЦСП в смесь торфа и азотного удобрения снижало эти эффекты: на почве с исходным 1% ТД биомасса кукурузы в варианте с ЦСП была в 10, а с 2% ТД - в 6 раз выше. В сравнении с надземной биомассой влияние обеих композиций на биомассу корней был несколько меньшим, соотношение надземной и корневой биомасс растений повышалось, что также свидетельствовало о снижении фитотоксичности загрязненной почвы.

Данные проведенных нами опытов указывали на в целом близкий характер влияния изученных факторов на высоту и надземную биомассу кукурузы к моменту уборки зеленой массы. Это позволило рассматривать зафиксированные

нами изменения линейного роста растений в ходе ее вегетации как отражение проявления фитотоксичности загрязненной почвы (Рис. 6).

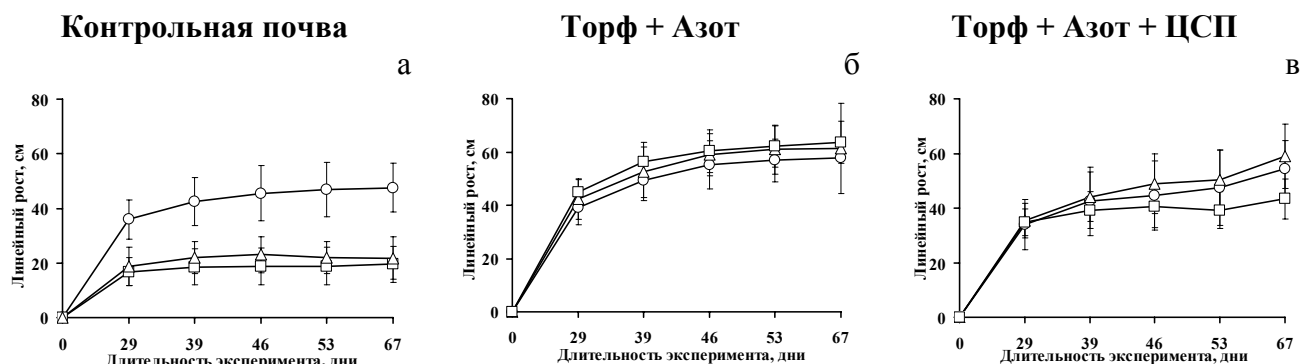


Рис. 6. Совместное влияние сорбционного, мелиоративного факторов и уровня минерального питания на проявление фитотоксичности загрязненной почвы в течение вегетации кукурузы. Варианты опыта: ○ Незагрязненная почва, △ Почва с ТД 1%, □ Почва с ТД 2%.

Анализ зависимостей показывает, что величина эффекта загрязнения, количественно оцениваемого по соотношению высот растений в незагрязненной и загрязненной почве, не была постоянной в процессе развития растений, а также зависела от наличия и вида внесенных материалов. В их отсутствии уровень фитотоксичности контрольной почвы в течение первого месяца вегетации постепенно возрастал, а в течение следующих 40 дней лишь несколько увеличивался (Рис. 6 а). Такая же картина была характерна для растений в почве с добавлением только торфа или аммиачной селитры. Принципиально другие эффекты отмечали в вариантах с обеими композициями, где токсичность почвы для растений устранялась уже на начальном этапе вегетации (Рис. 6 б, в). Однако если в случае внесения торфа совместно с азотом она практически не проявлялась до конца опыта (Рис. 6 б), то при добавлении торфа с азотом и ЦСП (Рис. 6 в) такой эффект наблюдали только при исходном загрязнении 1% ТД, а в почве с 2% ТД небольшая токсичность сохранялась до окончания опыта.

Оптимизация сорбционных свойств почвенной среды с целью снижения токсичности загрязненного выщелоченного чернозема. В основе установленных нами различий в сорбционных емкостях ЦСП и торфа по отношению к УВ в средах разной влажности лежат различные механизмы сорбции, обусловленные, в свою очередь, разным составом этих сорбентов. Сорбция УВ на ЦСП, глинистые минералы которой обладают большой удельной поверхностью (адсорбция), протекает более интенсивно, чем на торфе, однако из-за конкуренции с молекулами воды во влажной среде ЦСП малоактивна. С другой стороны, во влажных средах в процессе сорбции (абсорбция) неоспоримое преимущество имеет гидрофобный торф, обладающий развитой органической фазой [Breus, 2008; Денисова, 2009].

С целью объединения положительных эффектов механизмов сорбции, свойственных ЦСП и торфу, а также в связи с тем, что сорбционный фактор описывается количественно и таким образом позволяет целенаправленно регу-

лизовать процесс снижения фитотоксичности загрязненной УВ почвы, мы включили в дальнейшее исследование низкостоимостные органоминеральные сорбенты (ОМС) на основе ЦСП. Наличие у ОМС одновременно минеральной части и органической фазы (дополнительным преимуществом является возможность варьирования их соотношения, а значит и сорбционной емкости) обуславливает их большую активность, чем торфа и ЦСП, в отношении гидрофобных загрязнителей при любой влажности.

Проведенное ранее сравнение сорбционных емкостей (были измерены изотермы сорбции) низинного торфа, ЦСП и ОМС, полученного на основе ЦСП и органического модификатора - катионного ПАВ - гексадецилтриметиламмоний бромида (ГДТМА), в отношении ряда алифатических и моноароматических УВ, показало его значительное преимущество в гидратированной среде [Савин, 2012]. Учитывая эффекты значительного снижения фитотоксичности УВ в почве, при внесении торфа и азотного удобрения, мы предположили, что на их фоне положительное влияние ОМС на биodeградацию УВ будет проявляться более отчетливо. Поэтому нами был проведен лабораторный опыт, включающий сравнение эффектов двух композиций: «торф+аммиачная селитра+ОМС» и «торф+аммиачная селитра+ЦСП» в выщелоченном черноземе, загрязненном 1 и 2% ТД. Низинный торф и ЦСП использовали в дозе 5 масс.%, аммиачную селитру – в оптимальной дозе 0,6 г N/ кг. При выборе дозы ОМС исходили из полученных на основе изотерм сорбции данных по сорбционной активности материалов во влажной среде, возрастающей в ряду: ЦСП (2,6 мкл/г) < низинный торф (12,1 мкл/г) < ОМС (48 мкл/г). Учитывая, что ОМС сорбирует почти в 20 раз большее количество УВ, чем ЦСП, в опыте его использовали в количестве 0,5 масс.% - на порядок меньшем, чем в случае торфа и ЦСП. Полученные результаты были сопоставлены с эффективностью варианта «торф+аммиачная селитра», то есть без дополнительного сорбента.

Экспериментальные данные показали, что к концу опыта в почве с исходным 1% ТД степень его биodeградации в варианте «торф+N+ЦСП» была существенно меньше (84%), чем при использовании композиции «торф+N+ОМС», а в случае 2% ТД: 77% и 95% соответственно. В сравнении с немодифицированной ЦСП использование ОМС в смеси с торфом и азотным удобрением снизило содержание остаточного ТД в первом случае в 5,1 раз, во втором – 4,4 раза. Сопоставление результатов всех проведенных нами опытов показывает, что из изученных материалов и их комбинаций одновременное внесение в загрязненную почву торфа, минерального азотного удобрения и высокоактивного ОМС в наибольшей степени способствовало биостимуляции разложения ТД. При оценке полученных эффектов необходимо учитывать, что ОМС был добавлен в почву в количестве, на порядок меньшем, чем ЦСП и торф. По этим результатам получен патент на изобретение «Состав для очистки почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами» и подана Международная заявка по системе РСТ.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. В условиях прямого контакта токсичность УВ для семян обусловлена главным образом их сорбционными взаимодействиями и возрастает в ряду: жидкий бензол < парообразный бензол = парообразный толуол < жидкий толуол < МН ~ ТД. Существенным фактором, определяющим сорбцию, является гидрофобность УВ, связанная с их молекулярной массой и негативно влияющая на всхожесть. На фитотоксичность УВ значительно влияет также их фазовое состояние: к жидким УВ наиболее устойчивы семена вики, наименее – кукурузы, а при контакте с парами наибольшую всхожесть имеет кукуруза.

2. Сорбционная активность семян в отношении всех изученных УВ возрастает в ряду: кукуруза < вика << сорго суданское ~ сорго сахарное <<< райграс. Обратная связь сорбции загрязнителя семенами с их массой обусловлена существенным вкладом удельной поверхности семян в процессы адсорбции и абсорбции (поглощения) УВ. У всех изученных культур основная часть (94-99%) ТД абсорбируется внутренней биомассой семян.

3. В отличие от прямого контакта с УВ, в почвенной среде воздействие УВ на семена реализуется в основном в паровой фазе; этим объясняется высокая всхожесть кукурузы в загрязненной ТД почве. Определяющими факторами в почве, кроме гидрофобности, являются степень летучести и растворимости УВ: менее летучий и растворимый ТД существенно менее токсичен, чем МН.

4. Наиболее мощным стимулятором почвенного дыхания, роста численности УОМ, биodeградации ТД, роста и накопления биомассы взрослыми растениями кукурузы является улучшение азотного режима загрязненной почвы. Оптимальная доза аммиачной селитры (0,6 г N/кг) вызывает 6-10-кратное снижение содержания ТД под кукурузой и при 8-9-кратном приросте биомассы полностью устраняет фитотоксичность. Сорбционные свойства торфа, наряду с мелиоративными и питательными, являются важным фактором усиления биodeградации ТД (на 28-32%) и снижения его токсичности для растений (прирост биомассы 1,5 раза). Устранение почвенной кислотности также резко снижает степень фитотоксичности почвы (8-кратный прирост биомассы).

5. Совокупное использование сорбционного, питательного и мелиоративного факторов имеет синэргическое действие в отношении усиления биodeградации ТД и снижения токсичности почвы для растений и почвенных микроорганизмов. Совместная оптимизация этих факторов при использовании композиций «торф+N+ЦСП», и особенно «торф+N» восстанавливает продуктивность биомассы кукурузы до уровня незагрязненной почвы.

6. Количественная регуляция сорбционного фактора путем использования ОМС на основе ЦСП с разной долей органической компоненты (катионного ПАВ) позволяет целенаправленно управлять процессом снижения фитотоксичности загрязненной УВ почвы.

ОСНОВНЫЕ РАБОТЫ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Денисова А.П. Биологическая активность почвы, загрязненной углеводородами /А.П. Денисова, **А.Ф. Хайруллина (Халилова)**, Н.С. Архипова, И.П. Бреус // Технологии нефти и газа. – 2007. - №4. – С. 25-32 (перечень ВАК), (0,5 п.л., автора – 0,3).
2. Халилова А.Ф. Влияние азотного питания на вегетацию кукурузы на загрязненном алифатическим углеводородом выщелоченном черноземе/ А.Ф. Халилова, А.П. Денисова, И.П. Бреус //Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2009. – Т. 151, кн. 3. – С. 104–117 (перечень ВАК), (0,87 п.л., автора – 0,65).
3. Denisova, A. Effects of zeolite-containing material and ammonium nitrate on biodegradation of n-tridecane in heavy clay-loam leached chernozem with high organic matter content / A. Denisova, **A. Halilova**, V. Breus, and I. Breus. // Soil & Sediment contamination – 2011. – V. 20 – 824-840 (перечень ВАК), (1,0 п.л., автора – 0,6).
4. Поташев, К.А. Анализ применимости модели Моно к описанию биodeградации н-тридекана в почве на основе экспериментальных данных / К.А. Поташев, П.В. Малов, И.П. Бреус, **А.Ф. Халилова** // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – № 4 (164). – 2011. – С. 76-80 (перечень ВАК), (0,3 п.л., автора - 0,2).
5. Халилова А.Ф. Устойчивость растений к углеводородному загрязнению на стадии прорастания / А.Ф. Халилова // Проблемы агрохимии и экологии – 2012. - №2 – С. 47-58 (перечень ВАК), (0,75 п.л., автора -0,75).
6. Халилова, А.Ф. Биодоступность нефтяных и топливных углеводородов в почве и влияние на нее сорбционных процессов // Всероссийский журнал научных публикаций – 2011. - №6 – С 14-16 (0,18 п.л., автора – 0,18).
7. Denisova, A. The influence of nitrogen fertilizer and zeolite-containing material on microbial activity of hydrocarbon contaminated leached chernozem / A. Denisova, **A. Hairullina**, I. Breus, N. Archipova, V. Breus, N. Antsyshkina // ConSoil 2008: Proceed. of 10th Internat. FZK/TNO Conf. on Contaminated Soil. Milano, Italy, 3-6 June, 2008. - 6 pp (0,06 п.л., автора – 0,02).
8. Денисова (Кривошеева), А.П. Исследование влияния удобрений, мелиорантов и устойчивых растений на биodeградацию экзогенных углеводородов в почве / А.П. Денисова (Кривошеева), **А.Ф. Хайруллина (Халилова)**, Н.С. Архипова, И.П. Бреус // Современные проблемы загрязнения почв: Сб. материалов II Междунар. науч. конф. – М.: МГУ, 2007. - С. 271-275 (0,31 п.л., автора - 0,17).
9. Денисова, А.П. Влияние углеводородного загрязнения на биологическую активность чернозема выщелоченного / А.П. Денисова, **А.Ф. Хайруллина (Халилова)**, Н.С. Архипова, И.П. Бреус // Экология биосистем: проблемы изучения, индикации и прогнозирования: Сб. материалов Междунар. научно-практич. конф. Часть 1. – Астрахань: АГУ, 2007. – С. 117-118 (0,13 п.л., автора – 0,07)

10. Халилова, А.Ф. Чувствительность всхожести семян культурных растений к химической природе углеводородного загрязнения и его длительности / А.Ф. Халилова, Н.С. Архипова, М. А. Васильева // «Биология – наука XXI века»: Сб. материалов 13-ой Междунар. Пущинской школы-конференции молодых ученых. – Пущино, 2009. – С. 250-251 (0,13 п.л., автора – 0,10).
11. Денисова, А.П. Оценка факторов, влияющих на фитотоксичность загрязненной тридеканом почвы, и возможность ее снижения / А.П. Денисова, **А.Ф. Халилова**, Н.С. Архипова, И.П. Бреус // Межвузовский сборник научных трудов «Экология России: на пути к инновациям» Выпуск 1. – Астрахань: АГУ, 2009. – С.4-8 (0,31 п.л., автора – 0,20).
12. Халилова, А.Ф. Влияние исходной влажности почвы на степень биodeградации углеводородного поллютанта / А.Ф. Халилова // «Биология – наука XXI века»: Сб. материалов 14-ой Междунар. Пущинской школы-конференции молодых ученых. Том 2. - Пущино, 2010. – С. 91 (0,06 п.л., автора – 0,06).
13. Denisova, A. Phytotoxicity of hydrocarbon-contaminated leached chernozem for maize plants / A. Denisova, **A. Halilova**, S. Nekljudov, N. Sharonova, N. Antsyshkina, N.S. Archipova // ConSoil-2010: Proceed. of 11th Internat. FZK/TNO Conf. on Contaminated Soil – Salzburg, Austria, 22-24 September, 2010. – pp (0,19 п.л., автора – 0,09)
14. Potasev, K. The mathematical model of immobilization of fuel hydrocarbons in soils under the influence of biological and sorption factors / K. Potasev, P. Malov, **A. Halilova** // ConSoil-2010: Proceed. of 11th Internat. FZK/TNO Conf. on Contaminated Soil – Salzburg, Austria, 22-24 September, 2010. - 171 pp (0,19 п.л., автора – 0,10).
15. Халилова А.Ф. Усиление самоочищающей способности загрязненных углеводородами почв путем внесения потенциальных биостимуляторов / А.Ф. Халилова // Материалы Междунар. научной конференции «Ресурсный потенциал почв - основа продовольственной и экологической безопасности России» - Санкт-Петербург, 2011 - С. 247 (0,06 п.л., автора – 0,06).
16. Хайруллина (Халилова) А.Ф. Влияние удобрений и мелиорантов на биопродуктивность и численность углеводородоксиляющих микроорганизмов в условиях углеводородного загрязнения почвы / А.Ф. Хайруллина (Халилова), А.П. Денисова, Н.С. Архипова // Юбилейная всероссийская конференция X Докучаевские молодежные чтения «Почвы и техногенез»: Тезисы докладов – Санкт-Петербург, 2007 - С. 118-119 (0,13 п.л., автора – 0,10).
17. Халилова А.Ф. Влияние азотного удобрения на активность почвенного микробоценоза / А.Ф. Халилова, Е.В. Федорова, Н.С., Архипова // Всероссийская научная конференция XI Докучаевские молодежные чтения «Почва как носитель плодородия»: Тезисы Междунар. научно-практич. конф – Санкт-Петербург, 2008 - С. 232-233 (0,13 п.л., автора – 0,10).
18. Халилова А.Ф. Сравнение способов усиления биodeградации тридекана в загрязненной почве/ А.Ф.Халилова //XVI междунар. конф. студентов и аспирантов и молодых ученых «Ломоносов 2009»: Тезисы докладов – Москва, 2009 – С. 157-158 (0,13 п.л., автора – 0,13).

19. Халилова, А.Ф. Влияние сорбционно-активных почвенных добавок на биологическую активность выщелоченного чернозема, загрязненного углеводородами /А.Ф. Халилова, А.В. Савин, М.Л. Бондырев, А.П. Денисова //«Ломоносов 2010»: Тезисы докладов XVII Междунар. конф. студентов и аспирантов и молодых ученых – Москва, 2010. - С. 211 (0,13 п.л., автора – 0,13)
20. Халилова А.Ф. Влияние углеводородных загрязнителей на всхожесть семян в условиях прямого контакта / А.Ф. Халилова // «Ломоносов 2011»: Тезисы докладов XVIII Междунар. конф. студентов и аспирантов и молодых ученых; секция «Биология» – Москва, 2011. - С. 313 (0,06 п.л., автора – 0,06).
21. Пат. 2450872 Российская Федерация. Состав для очистки почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами / В.А. Бреус, С.А. Неклюдов, И.П. Бреус, **А.Ф. Халилова**, М.Л. Бондырев; заявитель Казан. гос. ун-т. - № 2010136180; заявл. 27.09.2010; опубл. 20.05.2012
22. Международная заявка РСТ WO2010/140917, МПК E 02 D 31/00. Method of increasing of soil barrier functions against contamination by hydrocarbons / V.A. Breus, S.A. Neckludov, I.P. Breus, **A.F. Halilova**, M.L. Bonndarev; заявитель Казан. гос. ун-т. – заявл. 04.06.2009, опубл. 09.12.2010. - 8 с.